

Материал поступил в редакцию: 27-08-2015

Материал принят к печати: 22-09-2015

УДК: 616-002.77; 616-089.843

Skin morphology of patients with systemic scleroderma after autologous bone marrow stem cells transplantation

Galina Fedotovskikh, Galiya Shaimardanova, Manarbek Askarov, Aigerim Smagulova

«National Scientific Medical Research Center» JSC, Astana, Kazakhstan

The aim: To evaluate a morphological pictures of patients skin with systemic scleroderma (SSc) before and after of autologous hematopoietic fraction of bone marrow cells (SCs) transplantation.

Methods: The skin biopsy from 15 patients were studied before and in 3 months after SCs transplantation. The samples were stained with hematoxylin and eosin and Masson-trihrom. Immunochemical study was performed using the CD 31, 3, 19 markers. The electron microscopy (EM) has been done by conventional method and embedded in EPON. The semithin section were stained with methylene blue, azure- 2 and basic fuchsin. Ultrathin section treated by uranylacetate and leadcitrate in accordance with Reynolds and examined with an EM Libra 120 (Carl Zeiss).

Results: There were an epidermis atrophy, fibrosis of the connective tissue of derma and microvascular pathology in the skin samples before treatment. Nondifferentiated cells, active fibroblast and miofibroblast are presented there. In three month after treatment there were observed significant changes, namely: decreasing of skin density from 12,9 to 8,7, decreasing of the collagen deposit, neovascularisation, telocytes migration, activating of macrophages and fibroblasts which take part in remodeling of fibrous tissues. Restoration of epidermis, hair follicles and sweat glands.

Conclusion: Transplantation of SCs cells make a contributions of fibrose reduction, angiogenesis and skin epithelium remodeling.

Keywords: scleroderma – skin - cell transplantation - morphology.

J Clin Med Kaz 2015; 3(37): 37-42

Correspondence Author: Федотовских Галина Васильевна, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник Национального научного медицинского центра. Тел.: 8-707-222-32-56, E-mail: Gvf_fedotovskikh@mail.

ЖҮЙЕЛІ СКЛЕРОДЕРМИЯМЕН АУЫРАТЫН НАУҚАСТАРҒА АУТОЛОГИЯЛЫҚ СҮЙЕК КЕМІГІНІҢ ЖАСУШАЛАРЫН ТРАНСПЛАНТАЦИЯЛАУДАН СОҢ ТЕРІНІ МОРФОЛОГИЯЛЫҚ БАҒАЛАУ

Федотовских Г.В., Шаймарданова Г.М., Асқаров М.Б., Смағұлова А.Қ.

«Ұлттық ғылыми медициналық орталық» АҚ, Астана қ., Қазақстан

Зерттеу мақсаты. Жүйелі склеродермиямен ауыратын науқастардың терісінің морфологиялық жағдайын сүйек миының аутологиялық қан түзуші жасушаларларын трансплантациялауға дейін және кейін бағалау.

Әдістер. Морфологиялық зерттеу үшін трансплантацияға дейін жүйелі склеродермиясы (SSC) бар 15 науқастың және трансплантациядан кейін 9 науқастың терісіне биопсиясы жасалып материалы алынды. Гистологиялық парафинді кесінділер гематоксилин мен эозинге, сонымен бірге Массон – трихром бойынша боялды. Парафинді блоктарды иммунды гистохимиялық зерттеулер CD 31, CD3 және CD 19 маркерлерін қолдана отырып дәстүрлі Дако әдістемесімен жасалынды. Электронды микроскопияға арналған материал да дәстүрлі әдіспен даярланып, EPON-да ендірілді. Жартылай бөлімдер метиленді көк, азур-2 мен және негізгі фуксинмен боялды. Ультражұқа бөлімдер уранил ацетатпен және қорғанысты цитратты Рейнольдсқа сәйкес контрасталды. Содан кейін Carl Zeiss фирмасының Libra 120 электронды микроскопын қолданып зерттелді.

Нәтижелері. Морфологиялық зерттеу барысында емдеу алдында SSC бар науқастардың терісінің морфологиялық көрінісі тері эпидермисінің атрофиясымен, терінің фиброзды дәнекер ұлпасының буындарының патологиясымен сипатталды. Негізгі жасушалардың құрамдас ұлпасының ажыратпасыз жасушалары болып склерозды ұлпалар, фиброциттермен миофибробласттар табылды. Трансплантациядан кейін үш айдан соң аутологиялық культивирленген сүйек кемігінің саны 12,9 дейінгі 8,7 балға төмендеуі коллагеннің ауытқуының төмендеуіне, қан капиллярларының пайда болуына, телоциттердің пайда болуына, белсендірілген макрофагтардың және фиброкластардың, фиброзды дәнекер ұлпаның ремодуляцияға қатысуына әсер етті. Эпидермистің құрылымын, тер бездері мен шаш фолликуласын қалпына келтіруге септігін тигізді.

Қорытынды. Аутологиялық сүйек кемігінің алдын ала культивирленген жасушаларының трансплантациясы жүйелі склерозда тері эпителиінің ангиогенездің тұрақтылығына және фиброз ұлпаларының қалпына келтіруіне ықпал етеді.

Маңызды сөздер: склеродермия - тері - жасушалар трансплантациясы - морфология.

МОРФОЛОГИЯ КОЖИ БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА

Федотовских Г.В., Шаймарданова Г.М., Аскаров М.Б., Смагулова А.К.

АО «Национальный научный медицинский центр», г.Астана, Казахстан

Цель исследования. Оценить морфологическое состояние кожи больных системной склеродермией до и после трансплантации аутологичных прекультивированных гемопоэтических клеток костного мозга.

Методы. Материалом для морфологического исследования послужил биопсийный материал кожи голени больных системной склеродермией (ССД), взятый у 15 пациентов до и 9 после трансплантации гемопоэтической фракции аутологичных клеток костного мозга. Гистологические парафиновые срезы окрашивались гематоксилином и эозином, а также по Массон – трихром. Иммуногистохимическое исследование проводилось на парафиновых блоках по общепринятой методике Dako с использованием CD 31, CD3 и CD 19 маркеров. Для электронной микроскопии материал проводили по общепринятой методике и заключали в EPON. Полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим, азуром – 2 и основным фуксином. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу. И исследовали в электронном микроскопе Libra 120 фирмы Carl Zeiss.

Результаты. При морфологическом исследовании кожа больных ССД до лечения характеризовалась атрофией эпидермиса, фибрированием соединительной ткани дермы, патологией сосудов микроциркуляторного русла. Основными клеточными элементами склерозированной ткани были недифференцированные клетки, фиброциты и миофибробласты. Через три месяца после трансплантации аутологичных прекультивированных клеток костного мозга отмечено достоверное уменьшение плотности кожи со снижением кожного счета с 12,9 до 8,7 баллов, уменьшение отложений коллагена, новообразование кровеносных капилляров, появление телодцитов, активированных макрофагов и фиброкластов, принимающих участие в ремодуляции фиброзной соединительной ткани. Восстанавливалась структура эпидермиса, появлялись потовые железы и волосяные фолликулы.

Выводы. Трансплантация аутологичных прекультивированных клеток костного мозга при системной склеродермии способствовала уменьшению избыточной фиброзной ткани, стимуляции ангиогенеза и восстановлению эпителия кожи.

Ключевые слова: склеродермия – кожа - клеточная трансплантация – морфология.

Введение

Изучение сложного этиопатогенеза системной склеродермии (ССД) раскрыло многие молекулярно-клеточные механизмы аутоиммунной активации, патологии сосудов и избыточного фиброобразования, заложив основы перспективной таргетной иммуномодулирующей, антипролиферативной и антифиброзной терапии данного заболевания [1,2,3]. Большие надежды возлагаются на ангиопротективное и иммуномодулирующее действие статинов [4]. Получены положительные результаты клинического использования анти-CD20 моноклональных антител – ритуксимаба, при ранней стадии ССД [5]. Весьма перспективным направлением лечения больных ССД является и трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток [6,7,8].

В гистологический контроль динамики фиброза кожи в процессе лечения, как правило, включается счет миофибробластов, отвечающих за избыточное отложение компонентов внеклеточного матрикса [9]. Однако несомненный интерес представляют и другие структурные изменения кожи больных ССД, связанные с лечебным патоморфозом клеточной терапии.

Цель исследования. Дать морфологическую оценку кожи больных системной склеродермией до и после трансплантации аутологичных прекультивированных гемопоэтических клеток костного мозга.

Материалы и методы исследования

Под клиническим наблюдением находилось 50 больных в возрасте от 26 до 60 лет с достоверным диагнозом ССД по критериям Американской коллегии ревматологов (ACR, 1980) [10]. Продолжительность заболевания составляла более 3 лет. Основанием для проведения трансплантации стволовых клеток послужила резистентность к иммуносупрессивной терапии (Д-пеницилламин, азатиоприн, преднизолон) и высокий индекс активности аутоиммунного процесса (EscSG), согласно критериям Европейской группы по изучению ССД [11]. После клинико-лабораторного обследования больных ССД проведена аспирация костного мозга из гребня подвздошной кости в количестве 400 мл. Биотехнологическим методом выделена

гемопоэтическая фракция стволовых клеток (ГСК) с последующим культивированием их в течение 72 часов. При длительных хронических заболеваниях аутологичные клетки костного мозга утрачивают свою биорегуляторную активность и становятся мало пригодными для клеточной терапии. Поэтому восстановление активности ГСК достигалось путем предварительного культивирования *in vitro* в питательных средах, устраняющих ингибирующее влияние стресса.

Трансплантация ГСК проводилась системно (внутривенно) в среднем в количестве до 140×106 клеток. Клиническую эффективность оценивали по критериям Европейской группы по изучению ССД (кожный счет по методу Роднана, индекс активности EscSG).

Материалом для морфологического исследования послужил биопсийный материал кожи голени в стадии индукции, взятый у 15 пациентов до и у 9 пациентов после успешной трансплантации ГСК при улучшении состояния кожных покровов больных ССД. Гистологические парафиновые срезы окрашивались гематоксилином и эозином, а также по Массон – трихром. Иммуногистохимическое исследование проводилось на парафиновых блоках с использованием набора реактивов ДАКО. Для электронной микроскопии материал проводили по общепринятой методике и заключали в EPON. Полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим, азуром – 2 и основным фуксином. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу. Исследование проводили на электронном микроскопе Libra 120 фирмы Carl Zeiss. Данное исследование одобрено решением Локальной комиссии по биоэтике АО «Национальный научный медицинский центр», протокол №004/СТ-14 от 24 апреля 2014 г.

Результаты

При морфологическом исследовании кожа больных ССД до лечения находилась в стадии индукции и характеризовалась атрофией эпидермиса, фибрированием соединительной ткани дермы, патологией сосудов микроциркуляторного русла. Волосяные фолликулы, сальные и потовые железы были атрофированы. Отслаивание

роговых чешуек и резкое истончение эпидермиса приводили к разрывам и полной десквамации эпителиальных слоев, особенно на участках с выраженным подэпителиальным фиброзом. На полутонких срезах наблюдалась яркая фуксинофилия и метакромазия плотно упакованных тонких волокон папиллярного и грубых пучков отечного ретикулярного слоя (рисунок 1).

При гистохимическом исследовании соединительная ткань дермы окрашивалась по Массон – трихром в интенсивно синий цвет. Электронномикроскопически коллагеновые волокна были представлены полями неупорядочено расположенных пучков коллагеновых фибрилл неравномерной толщины и оптической плотности с деградацией в форме отека, разрыхления, зернистого и аморфного распада. Были отмечены и патологические формы коллагена в форме поперечно-связанных микрофибриллярных агрегатов. Гиалинизированные волокна имели гомогенный плотный и широкий лентовидный вид.

Микроциркуляторная сеть кровеносных капилляров дермы на светооптическом уровне была изменена и имела полиморфное строение в зависимости от степени фиброза соединительной ткани. Наблюдалась капилляры как с гипертрофированными эндотелиальными клетками и пролиферирующими перицитами, так и облитерированные сосуды с гомогенизированной темной или светлой некротизированной выстилкой. Электронномикроскопически в папиллярном слое отмечен некроз эндотелия коротких капилляров, «замурованных»

плотной фиброзной тканью. В глубже расположенных слоях дермы облитерированные сосуды были выстланы патологически измененными темными клетками с редуцированной, разрыхленной и фрагментированной базальной мембраной. Эндотелий более сохранных капилляров был окружен гипертрофированными перицитами. Отдельно лежащие перициты имели ультраструктуру схожую с миофибробластами. Отмечены признаки апоптоза и полной деструкции эндотелиальных клеток.

Клеточная инфильтрация дермы зависела от степени фибрирования соединительной ткани и сохранности кровеносных капилляров. В области активного фибриллогенеза она была выше, чем в плотной склерозированной и гиалинизированной ткани. При этом основными клеточными элементами помимо недифференцированных клеток и фиброцитов были миофибробласты (МФБ) с характерными филаментами. Наблюдалась как крупные МФБ, содержащие набухшие митохондрии и каналцы гранулярного эндоплазматического ретикулума, так и мелкие МФБ с преобладанием филаментов, занимающих значительный объем гиалоплазмы. Длинные и тонкие отростки соединялись между собой и «телом» плотными и десмосомоподобными контактами. Резкое набухание митохондрий и появление в матриксе миелиноподобных структур свидетельствовали о перенапряжении функционального состояния данных клеток (рисунок 2).

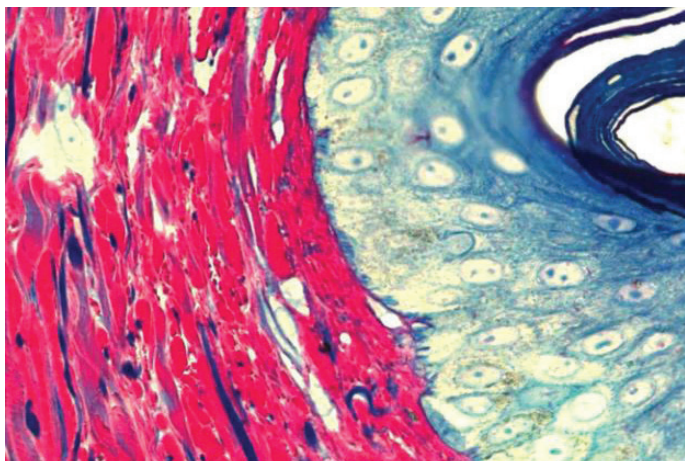


Рисунок 1 - Морфология кожи при системной склеродермии до трансплантации стволовых клеток костного мозга. Ороговение эпидермиса, резкая фуксинофилия склерозированной соединительной ткани кожи. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим, азуром 2 и основным фуксином. Увеличение x1000

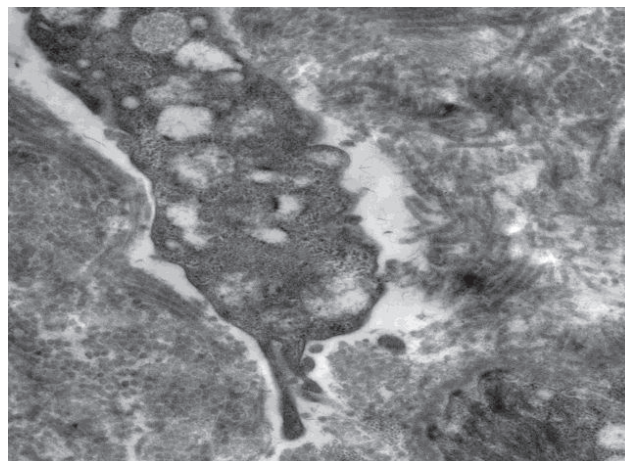


Рисунок 2 - Морфология кожи при системной склеродермии до трансплантации стволовых клеток костного мозга. Миофибробласт соединительной ткани с набухшими митохондриями. Электроннограмма. Увеличение x13000

В периваскулярной области располагались инфильтраты из лимфоцитов, фибробластоподобных и тучных клеток. Именно здесь электронномикроскопически были выявлены крупные продолговатой формы фибробласты без отростков, с признаками высокой синтетической активности, наличием в цитоплазме многочисленных диктиосом комплекса Гольджи и хорошо развитых каналцев гранулярного эндоплазматического

ретикулума с хлопьевидным материалом в просвете (рисунок 3). Данные клетки были отнесены к особой склеродерма - специфической популяции активированных фибробластов, продуцирующих повышенное количество коллагена, межучного матрикса и имеющих характерное периваскулярное расположение [12]. Лимфоциты имели крупное гиперхромное ядро, гладкую или ворсинчатую поверхность (рисунок 4).

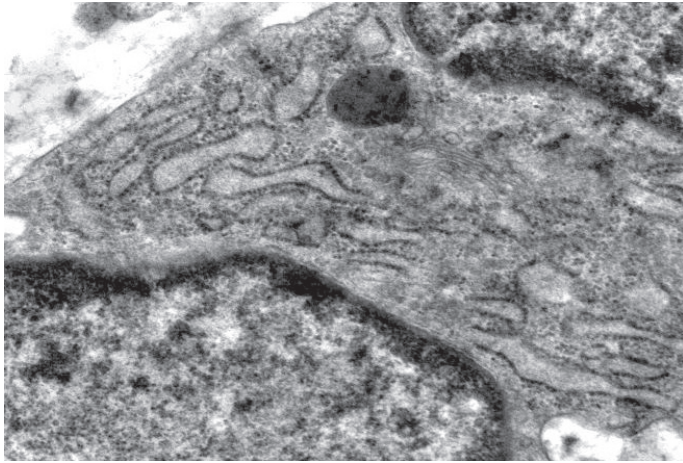


Рисунок 3 - Морфология кожи при системной склеродермии до трансплантации стволовых клеток костного мозга. Активированный фибробласт с цистернами ГЭР и комплексом Гольджи. Электроннограмма. Увеличение x13000

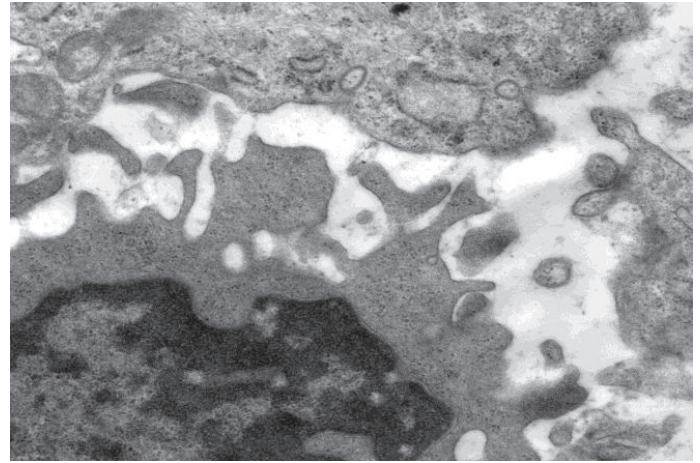


Рисунок 4 - Морфология кожи при системной склеродермии до трансплантации стволовых клеток костного мозга. Лимфоцит с многочисленными цитоплазматическими выростами. Электроннограмма.

Отмечены тесные межклеточные контакты лимфоцитов с фибробластами. В области контактов с активированными фибробластами в гиалоплазме лимфоцитов располагались многочисленные везикулярные структуры. В развитии микроваскулярного повреждения важная роль отводится как цитокинам, так и прямым контактам Т-лимфоцитов с эндотелием. Несмотря на явное преобладание процесса биосинтеза коллагена в пораженной коже больных ССД, нами были обнаружены и единичные фиброкласты, которые имели характерные выступы плазмалеммы, резорбирующие коллагеновые фибриллы. Ультраструктура МФБ, «замурованных» тесно прилежащими пучками коллагеновых фибрилл, характеризовалась деструкцией плазмалеммы. Между пучками коллагеновых фибрилл были видны органеллы и клеточный детрит погибших клеток. Лизис мембранных структур коллагенообразующих клеток сочетался с формированием патологических форм агрегации коллагена.

Через три месяца после трансплантации стволовых клеток отмечено достоверное уменьшение плотности кожи со снижением кожного счета с 12,9 до 8,7 баллов. Выявлено достоверное уменьшение активности ССД по

EScSG с 3,9 до 2,5 баллов. Снижению кожного счета соответствовали морфологические светооптические, гистохимические и электронномикроскопические изменения дермы, свидетельствующие об усилении процесса биодеградации фиброзной ткани. При гистохимическом исследовании наблюдалось снижение степени окрашиваемости соединительной ткани дермы по Массон - трихром, отражающее уменьшение отложений коллагена. На полутонких срезах хорошо было видно снижение плотности расположения пучков коллагеновых волокон с распадом на мелкие фрагменты (рисунок 5). Миофибробласты, расположенные в папиллярном слое приобретали вытянутую форму и гиперхромную окраску. Электронномикроскопически это были деструктивно измененные клетки с вакуолизированными органеллами и многочисленными вторичными лизосомами. Резко увеличивалось количество мелких капилляров с тонкими стенками, особенно расположенных в папиллярном слое, а также на границе слоев с прорастанием вглубь дермы. При иммуногистохимическом исследовании отмечено увеличение новообразованных сосудов, которое определялось при помощи маркера CD31 (рисунок 6).

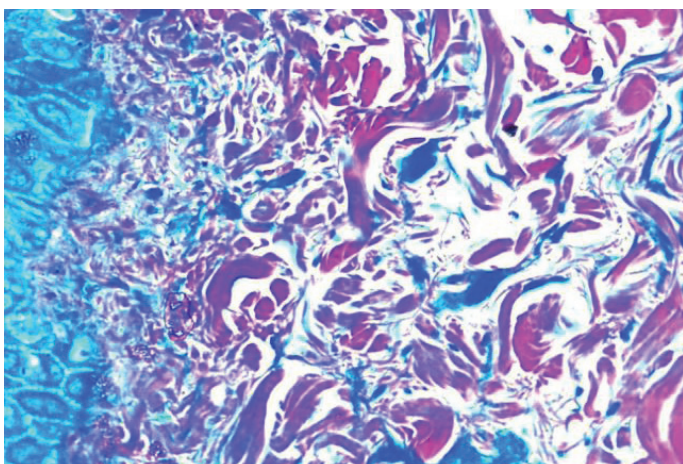


Рисунок 5 - Морфология кожи при системной склеродермии после трансплантации стволовых клеток костного мозга. Разрежение пучков коллагеновых волокон фиброзной ткани. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим, азуром 2 и основным фуксином. Увеличение x1000.

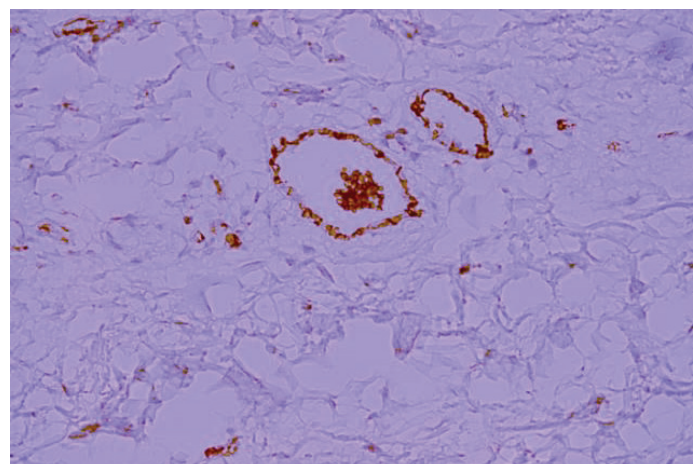


Рисунок 6 - Морфология кожи при системной склеродермии после трансплантации стволовых клеток костного мозга. Иммуногистохимическое исследование. CD31. Увеличение x400.

Именно вокруг полей новообразованных сосудов было отмечено разрежение фиброзной ткани и появление наряду с телоцитами многочисленных макрофагов и фиброкластов (рисунок 7). Эндотелий капилляров характеризовался

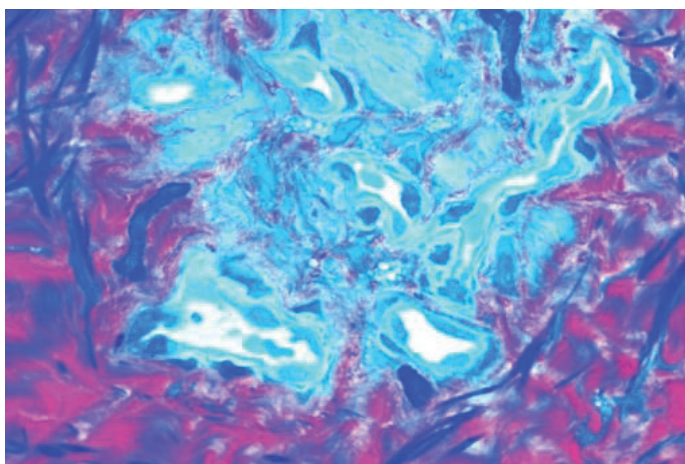


Рисунок 7 - Морфология кожи при системной склеродермии после трансплантации стволовых клеток костного мозга. Разрежение фиброзной ткани, макрофаги и телоциты вокруг сосуда. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим, азуром 2 и основным фуксином. Увеличение x1000.

Телоциты имели расширенную перинуклеарную и периферическую часть гиалоплазмы в форме тонких отростков с вакуолями, гранулярным эндоплазматическим ретикулумом и митохондриями. Межклеточные контакты были узкими разрыхленными с зоной многочисленных микропиноцитозных пузырьков или плотными и многократными с самыми разными типами клеток. Макрофаги моноцитоидного типа имели тесные межклеточные контакты с миофибробластами и недифференцированными клетками. Зрелые макрофаги

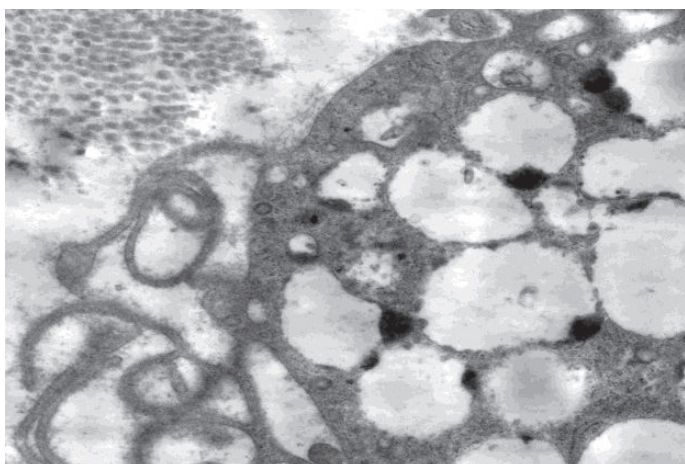


Рисунок 9 - Морфология кожи при системной склеродермии после трансплантации стволовых клеток костного мозга. Макрофаг с крупными фагоцитарными вакуолями и эгрелодами. Электроннограмма

Восстанавливалась структура эпидермиса, появлялись потовые железы и волосяные фолликулы. Наличие крупных вакуолей в базальных клетках эпидермиса свидетельствовало о возобновление через кожу трансцеллюлярного транспорта жидкости.

выраженным процессом микропиноцитоза. В непосредственном контакте с новообразованными капиллярами располагались тонкие и длинные отростки телоцитов (рисунок 8).

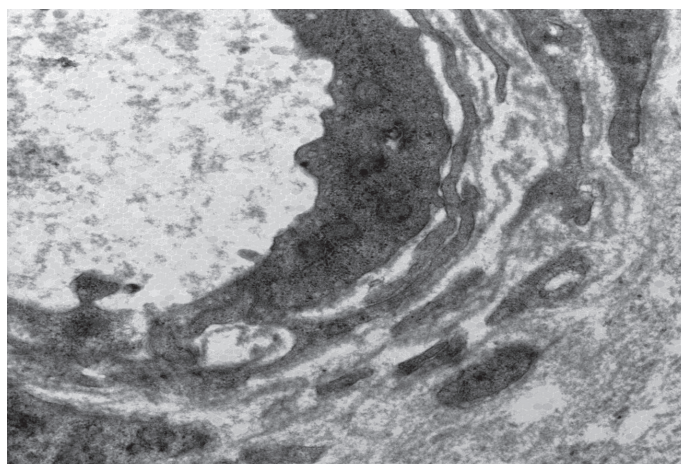


Рисунок 8 - Морфология кожи при системной склеродермии после трансплантации стволовых клеток костного мозга. Длинные отростки телоцитов, контактирующие с эндотелием капилляра. Электроннограмма.

обладали длинными выростами (эгрелодами) и тубулярными структурами, захватывающими разрушенный материал коллагеновых фибрилл. Крупные электроннопрозрачные вакуоли содержали контуры лизированных фибрилл и осмиофильные лизосомы (рисунок 9). В гиалоплазме макрофагов также располагались вторичные лизосомы, микровезикулы и мелкие секреторные гранулы. В поглощении коллагеновых фибрилл принимали участие и фиброкласты (рисунок 10).

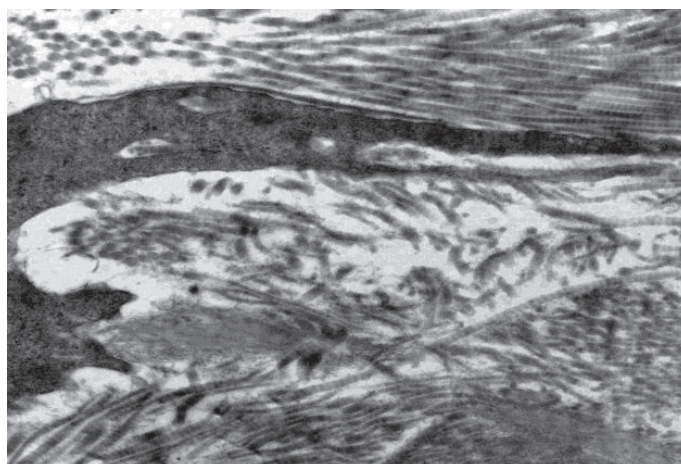


Рисунок 10 - Морфология кожи при системной склеродермии после трансплантации стволовых клеток костного мозга. Фиброкласт с втянутыми коллагеновыми фибриллами. Электроннограмма

Обсуждение

Результаты проведенной нами комплексной морфологической оценки состояния кожи больных системной склеродермией после трансплантации аутологичных стволовых клеток костного мозга соответствовали уменьшению плотности кожи со снижением

кожного счета с 12,9 до 8,7 баллов. Гистохимические данные свидетельствовали о биодеградации фиброзной ткани. При этом миофибробласты, как маркеры кожного фиброза при ССД подвергались деструкции. Увеличение количества мелких капилляров сопровождалось сменой периваскулярного клеточного ансамбля. Вместо инфильтратов из лимфоцитов, активированных фибробластов склеродерма-специфической популяции и тучных клеток появлялись телоциты, макрофаги и фиброкласты. За последние несколько лет телоциты были описаны в качестве нового типа соединительнотканых клеток, принимающих важное участие в недоразвитии кровеносных сосудов [13]. Помимо контактов с эндотелием капилляров отростки телоцитов - телоподии имели тесные межклеточные соединения с миофибробластами, макрофагами и недифференцированными клетками, подтверждая представление о сложном регулирующем механизме сигнальных путей сходящихся в телоцитах в процессе регенерации. Следует подчеркнуть и важную роль макрофагов в выделении индукторов ангиогенеза,

ремоделировании новообразованной ткани, регуляции количества и активности фиброкластов [14]. Как известно, активированные макрофаги вызывают существенную супрессию Т- и В-лимфоцитарных механизмов иммунитета [15], играющих важную роль в патогенезе ССД.

Выводы

Таким образом, трансплантация аутологических стволовых клеток костного мозга, представляя новый терапевтический подход лечения ССД, включала ауторегуляторные механизмы уменьшения избыточной соединительной ткани, стимуляцию ангиогенеза и восстановление эпителия и придатков кожи больных ССД. Использование стволовых клеток костного мозга, которым присущи иммуномодулирующие (естественная супрессорная активность), морфо- и ангиогенетические, а также антифибротические эффекты может стать эффективным и патогенетически оправданным методом лечения системной склеродермии

Литература

1. Nevskaja T.A., Anan'eva L.P., Guseva N.G. V-kletochnye narusheniya pri sistemnoj sklerodermii: vzaimosvjaz' s fibrozom i vaskulopatij, novye podhody k lecheniju (B-cell disorders in systemic sclerosis: relationship with fibrosis and vasculopathy, new approaches to treatment), *Zhurnal nauchno-prakticheskaja revmatologija*, 2009, No. 1, pp.43 – 60.
2. Guseva N.G. Sistemnaja sklerodermija – mul'tidisciplinarnaja problema (Systemic scleroderma - a multidisciplinary problem), *Zhurnal nauchno – prakticheskaja revmatologija*, 2011, No. 2, pp.10 – 14.
3. Koneva O.A., Anan'eva L.P., Ovsjannikova O.B. i dr. Issledovanie jeffektivnosti i bezopasnosti terapii mikofenolata mofetilom u bol'nyh sistemnoj sklerodermiej (Study the efficacy and safety of mycophenolate mofetil therapy in patients with systemic sclerosis), *Zhurnal nauchno – prakticheskaja revmatologija*, 2011, No.4, pp.16 – 23.
4. Alekperov R.T., Ljubimova E.G. Statiny pri sistemnoj sklerodermii (Statins in systemic sclerosis), *Zhurnal medicinskij sovet*, 2008, No.5-6, pp. 1-2.
5. Anan'eva L.P., Desinova O.V., Koneva O.A. i dr. Lechenie retuksimabom intersticial'nogo porazhenija legkih pri sistemnoj sklerodermii (Treatment retuksimabom interstitial lung disease in systemic sclerosis), *Zhurnal nauchno – prakticheskaja revmatologija*, 2013, No.5, pp.514 – 523.
6. Novik A.A. Transplantacija stvolovyh krovetvornyh kletok pri autoimmunnyh zabolevanijah (Stem cell transplantation in autoimmune diseases), *Zhurnal vest.Ros.voenno/med.akad*, 2002, T.7, No. 1, pp.98 – 102.
7. Alekperov R.T., Anan'eva L.P. Transplantacija autologichnyh gemopojeticheskikh stvolovyh kletok pri sistemnoj sklerodermii (Transplantation of autologous hematopoietic stem cells in systemic sclerosis), *Zhurnal nauchno – prakticheskaja revmatologija*, 2012, No.53(4), pp. 67–72.
8. J.M.van Laar, Tyndall.A. Adult stem cell in the treatment of autoimmune diseases, *Rheumatology*, 2006, Vol. 45, pp.1187–1193.
9. Kissin E.Y., Merkel P.A., Lafyatis R. Myofibroblasts and hyalinized collagen as markers of skin disease in systemic sclerosis, *Arthr Rheum*, 2006, Vol. 54, pp.3655–60.
10. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee, *After Rheum*, 1980, Vol. 23, pp. 581-90.
11. Revmatologija: nacional'noe rukovodstvo (Rheumatology: national leadership), pod red. E.L. Nasonova, V.A. Nasonovoj, M.: GJeOTAR-Media, 2008, 720 p.
12. Santiago B., Galindo M., Rivero M., Pablos J-L. Decreased susceptibility to Fas-induced apoptosis of systemic sclerosis dermal fibroblasts, *Arthritis Rheum*, 2001, Vol. 44(7), pp.1667–1676.
13. Manole C.G., Cismasiu V., Gherghiceanu Mihaela, Popescu L.M., *J Ctil Mol Med*, 2011, Vol. 15, No.11, pp.2284-2296.
14. Teoreticheskie voprosy travmatologii i ortopedii (Theoretical questions of traumatology and orthopedics), Berchenko G.N. Moskva, 1990, pp.19 – 32.
15. Immunopatogenez v infekcionnom processe (Immunopatogenez in an infectious process), *Beklemishev N.D., Coj I.G. «Fylym» Alma-Ata*, 1992, 335 p.